البعد الوراثي لأنواع ورد باستخدام RAPD

جَنان قاسم حسين
قسم البستنة –كلية الزراعة/جامعة بابل

المستخلص

نفذت التجربة في مختبرات التقانات الاحيائية–الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية–الجمهورية العربية السورية في صيف ٢٠١٠. استخدمت تقانة التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة DNA (RAPD) Randomly Amplified Polymorphic DNAالمعتمدة على تقانة PCR Polymerase Chain Reaction وبعشرة بادئات، لايجاد البصمة الوراثية والنسبة المئوية للبعد الوراثي لستة اصناف من الورد .*Rosa spp* تعود لستة انواع(ورد الشاي،ورد المسك،الورد الدائمي الهجين،الورد المتسلق،الورد المتقزم،الورد الفرنسي). تضمنت خطوات العمل عزل وتنقية DNA الاوراق الحديثة النمو للاصناف الداخلة بالبحث والكشف عن التباينات بين القطع المتضاعفة لكل صنف بعد ترحيل العينات بجهاز الترحيل الكهربائي في تفاعلاتRAPD. بينت نتائج التحليل الوراثي بمؤشرات RAPD اختلافا واضحا في عدد حزم الـDNA المتضاعفة وأوزانها الجزيئية وذلك تبعا للبادئ المستخدم إذ بلغ العدد الكلي للحزم المتباينة ٦٨ حزمة لكافة البادئات المستخدمة . أعطت انواع الورد تغايرات مظهرية ووراثية مختلفة أكدتها النسبة المئوية للبعد الوراثي الناتجة عن تحليل نتائج مؤشرات RAPD التي بلغت أعلاها ٤٠.٣% بين الورد الدائمي الهجين والورد المتسلق، واقلها ١٨.٩% بين ورد الشاي والورد المتسلق، وبعد حساب النسبة المئوية للبعد الوراثي بين الاصناف وجد تغايرات وراثية فيها ربما تعود الاختلافات الوراثية العالية بين انواع الورد إلى المواقع الجغرافية التي تنتمي إليها إضافة إلى عمليات التربية والتحسين التي أجريت عليها.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences 42 (2): 71-79,2011 Hussein .

THE GENETIC DISTANCE OF *ROSA SPP.* USING RAPD

Janan K. Hussein
Dept. of Horticulture
Coll. of Agric., Univ. of Babylon

ABSTRACT

The study was carried out at biotechnology laboratories- GCSAR- Syria in summer season-2010. The random amplified polymorphic DNA (RAPD) based on Polymerase Chain Reaction (PCR) with ten primers were applied, used to estimate fingerprinting and Genetic Distance for six cultivars of *Rosa spp.* (Tea R., Musk R. , Hybrid perpetuls R. , Climber R. , Miniature R. , French R.). Phases of work included the isolation and purification of DNA plant parts and DNA polymorphisms were scored within amplified fragements by electrophoresis. The results of RAPD analysis were clear differences in the number of DNA amplified fragments and molecular weights depending on the primers user . A total number of polymorphic amplified 68 fragments for all primers used . Genetic Distance for rose cultivars genetic variability found in it. High Genetic Distance Rose cultivars (40.3%) in RAPD markers was registered between the two cultivars (Hybrid perpetuls R. X Climber R.) and lowest Genetic Distance (18.9%) between (Tea R. X Climber R.). Rose cultivars gave genetical and morphological variations confirmed by genetic distance. High genetic differences between rose cultivars could be attributed to the geographical locations they were grown as well as plant breeding made to it.

المقدمة

ينتمي الورد .Rosa spp الى العائلة الوردية Rosaceaeوللورد أنواع عديدة واصناف كثيرة . تنمو الانواع البرية في مناطق متعددة من العالم كآسيا الوسطى وجنوب غرب اسيا ومنطقة البحر الابيض المتوسط واوربا الشمالية والصين واليابان. انتخبت اصناف عديدة من الورد المزروع نتيجة للتهجين بين انواع الورد البرية، وقد اظهرت الدراسات ان عدد الانواع البرية التي استخدمت في التهجين تتراوح بين ٨-١٠ انواع فقط وتعتبر آباء او اسلاف للهجن الحديثة المزروعة من الورد، واجرى Morey (1953) و Wyli (1954) العديد من الدراسات بهدف معرفة عدد الكروموسومات في انواع مختلفة من الورد وتبين انه يحتوي على سبعة كروموسومات (n=7) مع وجود اصناف ثلاثية (3n=21) ورباعية (4n=28)...الخ (٨).

تعتبر عملية الحفاظ والاستخدام المستمر للمصادر الوراثية الخطوة الجوهرية للحد من عملية الانجراف الوراثي ، كما ان وجود بيانات توصيفية مبنية على معايير علمية دقيقة لتوصيف تلك المصادر تشمل كل من الدراسات المورفولوجية والفسيولوجية والجزيئية تساهم بشكل فعال في تقييم تنوعها الوراثي في برامج التربية. وقد اوجد التقدم المتسارع في علوم البايولوجيا الجزيئية العديد من الوسائل والطرائق التي استخدمت في دراسات وتقييم التباينات والعلاقات بين التراكيب الوراثية ، فهناك العديد من التقانات الحيوية الحديثة المعتمدة على دراسة وتحليل المادة الوراثية ، ومن بين هذه التقانات التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة DNA (RAPD) Randomly Amplified Polymorphic DNA تعتمد هذه التقانة على إكثار قطع DNA النباتية في تسلسلها النيوكليوتيدي عشوائيا حيث تضخم قطع DNA الحاوية على تتاليات نيوكليوتيدية، والتي يمكنها أن تشكل تتامية مع البادئات العشوائية في نهايتها. يمكن رؤيتها على شكل حزم bands مختلفة الوزن الجزيئي في هلامة من الاكاروز Agarose (٧gel) . تتميز تقانة RAPD بانها لاتحتاج لمعرفة مسبقة بالتركيب النيوكليوتيدي للمادة الوراثية المراد دراستها، ومفيدة لدراسة العشائر ذات الاعداد الكبيرة من الافراد، كما لا يتطلب انجازها وقتا طويلا وانها غير معقدة ولا تحتاج الى وجود مواد مشعة، وتوفر عدد كبير جدا من البادئات التي يمكن تبادلها بين مراكز البحث، إضافة الى سهولة معرفة التسلسل النيوكليوتيدي للبادئ (٤).

درس Nebauer وآخرون (١٦) التنوع الوراثي لعشائر خلطية التلقيح من النوع النباتي *Digitalis obscura* L. حيث حللوا ٥٠ تركيبا وراثيا تنتمي الى ٦ عشائر باستخدام تقانة RAPD فوجدوا ان معظم الاختلافات الوراثية التي بلغت حوالي ٨٤.٨% كانت ضمن العشائر ،ونسبة اقل من ٩.٧% بين المناطق،والنسبة الاقل ٥.٥% كانت بين العشائر ضمن المناطق. كما قدر Frederick واخرين (١٤) الاختلافات الوراثية لتسعة اصناف من ورد المسك Musk roses باستخدام تقانة RAPD وبخمسة بادئات كشفت جميعها عن تغايرات وراثية بين الاصناف كما اعطت اطوال حزم مختلفة بلغت (0.50-1.90 kbp). كما أجريت تقانة RAPD على ثلاثة اصناف من الكرز *Prunus laurocerasus* احدها بري وبينت النتائج ان اقل نسبة للتشابه الوراثي بين الصنف البري وأحد الاصناف المزروعة كانت ٠.٦٤٣ ، واعلى نسبة للتشابه الوراثي بين الصنفان المزروعان بلغت ٠.٨٤٢ (٢٠). فيما استخدم Debener و Mattiesch (١٣) ٢٤ بادىء بأطوال مختلفة (ثمانية من كل ١٠ ، ١٥ و٢٠ زوج قاعدة) باستخدام تقانة RAPD على نوعين من الروز *Rosa multiflora* و *Rosa canina* وبينا ان عدد القطع الجديدة DNA وتكرارها يعتمد على طول البادىء.

استخدمت الباحثة Ali وآخرون(١٠) مؤشرات RAPD للتحقق من الثبات الوراثي لنباتات النخيل

المنتجة بطريقة تكوين الاجنة الجسمية لصنف النخيل البرحي أذ تم أستخدام ٣٠ بادىء ولاحظت أن ثلاث بادئات فقط تم من خلالها الحصول على حزم متباينة وأستنتجت حدوث تغايرات وراثية في نباتات النخيل الناتجة من التقانة المستخدمة، وأشار Al-Khalifahو Askari (١١) الى ان مؤشرات RAPD تعد وسيلة فعالة في الكشف المبكر عن التغايرات الوراثية التي تحصل في النباتات المنتجة من زراعة الانسجة النباتية وذلك في دراسة لثلاث أصناف من النخيل هي برحي وسكري وخلاص ، وبالاشارة الى كفاءة تقانة RAPD في الكشف عن التغايرات الوراثية أستخدمت هذه التقانة في مقارنة محصول الرز بسمتي٣٧٠ مع أثنين من الطوافر القصيرة الارتفاع المشتقة منه بينما فشلت المؤشرات الانزيمية Isozyem في تشخيصها نتيجة أنخفاض مستوى التباينات الوراثية Polymarphism بينهما (٥). كذلك فقد كشفت تقانة RAPD عن التغايرات الوراثية التي أحدثها الصعق الكهربائي في نبات حلق السبع *Antirrhinum majus* حيث كانت أعلى نسبة للبعد الوراثية ٤٢% عند معاملة البذور المستنبتة بالمعاملة (٨ امبيرX ٦ دقائق) (٦)، وفي تجربة مماثلة على نبات الشبوي *Mathiola incana* أظهرت تقانة RAPD اختلافات وراثية بين النباتات المعاملة بالصعق الكهربائي كانت اعلى نسبة للبعد الوراثي ٣٥% في احد نباتات المعاملة (١٠ امبير X ٤ دقائق) عند معاملة بذور الشبوي المستنبتة (2).

يهدف هذا البحث الى دراسة النوع الوراثي وتحديد العلاقة الوراثية بين انواع الورد استنادا الى درجة التماثل الوراثي بينها، وتحديد الهوية الوراثية من خلال تحليل البصمة الوراثية لكل من الأصناف الداخلة في انواع الجنس قيد البحث باستخدام تقانة RAPD.

المواد والطرائق

نفذت التجربة في مختبر التقانات الحياتية في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية-سوريا. استخدمت ستة أصناف من الورد (ورد الشاي،ورد المسك،الورد الدائمي الهجين،الورد المتسلق،الورد المتقزم،الورد الفرنسي) تم الحصول عليها من احد المشاتل الحكومية السورية وهي تزرع بنجاح في العراق ، والجدول (١) يوضح وصف عام لهذه الأصناف. جمعت الأوراق النظيفة والخالية من الإصابات المرضية والحشرية بتاريخ ٩-٧-٢٠١٠ ولكل صنف على حدا،والتي استخدمت في عزل وتحليل DNA باستخدام تقانة RAPD.

عزلت الاحماض النووية من الاوراق السليمة بعمر اسبوعين وفقا لطريقة Weigand وآخرين (٢٣) المعتمدة على طريقة Sahgi-Maroof وآخرون(١٨)، وقدرت كمية الحامض النووي DNA في العينات باستخدام جهاز (Spectrophotometer Beckman Du-61) بوجود الاشعة فوق البنفسجية UV وطول موجي ٢٦٠نانوميتر، وكانت كل قراءة للكثافة الضوئية على الجهاز مقدارها ١ تعادل ٥٠ ميكروغرام من DNA/١مل من السائل. كما قدرت نقاوة DNA من خلال قسمة رقم قراءة الكثافة الضوئية عند طول موجي ٢٦٠ نانومتر على رقم قراءة الكثافة الضوئية على طول ٢٨٠ نانو متر ، ويعد الحمض النووي نقيا اذا تراوح حاصل قسمة القرائتين بين المدى ١.٨- ٢ (جدول٢).

جُرب ٢٠ بادىء من شركة Operon technology يتكون كل منها من عشرة قواعد نيوكليوتيدية، أختير منها ١٠ بادئات تميزت بقدرتها على أعطاء اختلافات واضحة في DNA (جدول٣).

أجريت كافة تفاعلات التضخيم العشوائي وفقاً لطريقة Haley واخرين (١٥). مررت نواتج التفاعل عبر هلامة من الآكاروز تركيزها ١.٢% في جهاز الترحيل الكهربائي الافقي لمدة ٥ ساعات وبوجود المحلول القياسي1X TBE (١٩). صبغت DNA في هلامة الآكاروز بمادة بروميد الاثيديوم تركيز ٠.٥ مايكروغرام\مل ولمدة ٣٠

دقيقة، ثم صورت الهلامة بجهاز فيديو حاسوبي Video imaging system وأخذت القراءات من خلال الصور المحفوظة في الحاسوب مع جهاز الفيديو.

جمعت نتائج RAPD في جدول خاص أعتمادا على وجود او غياب قطع DNA للعينات المختلفة ، حيث رمز لوجود قطعة DNA المتضاعفة بالرقم ١ ولعدم وجودها بالرقم ٠. أستعمل برنامج SIMQUL لغرض ايجاد العلاقة الوراثية بين الاصناف الداخلة في هذه الدراسة،يعتمد هذا البرنامج على معادلة قيم التشابه (Similarity) المقدرة (١٧) الذي يعتمد على المعادلة:

Similarity = 2nxy / nx + ny

ثم قدرت النسبة المئوية للبعد الوراثي (Genetic distance) بين الانواع النباتية المختارة والتي تعتمد على نتائج التشابه الوراثي وفقا للمعادلة الآتية:

Genetic distance = 1 – (2nxy / nx + ny)× 100

حيث ان : nxy : تمثل عدد الحزم المشتركة بين النموذجين x و y والتي تمثل صنفين من الاصناف ، nx : عدد الحزم الكلية في النموذج x ، ny : عدد الحزم الكلية في النموذج y .

جدول١. بعض الصفات المظهرية والعامة لأصناف انواع الورد الستة والأصول التي تنتمي اليها.

رمز	الصنف	يعود لاصل الوراثي	لون الازهار	طبيعة الازهار	موعد التزهير	صفات عامة
١	ورد الشاي Tea R.	*Rosa chinensis*	متعدد الالوان	نورات زهرية صغيرة ٣-٥زهرة	تزهير مستمر عدا ايام البرد الشديد	اوراقه داكنة عند النضج نحاسية محمرة فب اوائل نموها،للازهار وسط مدبب ورائحة مرغوبة شبيهة برائحة الشاي.
٢	ورد المسك Musk R.	*Rosa moschata*	وردي	نورات زهرية متوسطة ٧-١٠زهرة	الربيع والخريف	تمتاز ازهاره بالرائحة القوية، اوراقه جلدية ذات ٥-٨وريقات والسيقان رفيعة وضعيفة النمو غزيرة الاشواك نوعا ما.
٣	الورد الدائمي الهجين Hybrid perpetuls R.	*Rosa damascene*	احمر،وردي	نورات زهرية صغيرة ٣-٥زهرة	الربيع والخريف	النبات مرتفع ومنتصب سريع النمو والازهار كبيرة وعريضة مسطحة عطرها مميز ، الاوراق كبيرة وخشنة داكنة الخضرة غير براقة.
٤	الورد المتسلق Climber R.	*Rosa multiflora*	احمر،وردي، ابيض	نورات زهرية وازهار طرفية على نفس النبات	الربيع والخريف	يمتاز بافرع شوكية طويلة له القابلية للتسلق على الاجسام المجاورة لها،وهو مقاوم للبرد.
٥	الورد القزمي Miniature R.	*Rosa polyantha*	احمر،وردي	نورات زهرية كبيرة ٢٠-٣٠زهرة	على مدار السنة	النبات قصير لايتجاوز ارتفاعه ٣٥سم اوراقه وازهاره صغيرة الحجم يستخدم للزراعة كنبات تحديد او اصص.
٦	الورد الفرنسي French R.	*Rosa gallica*	قرمزي	ازهار مفردة	الربيع فقط	يمتاز بالافرع القوية النمو والغزيرة الاشواك، اوراقه عريضة تتكون من ٣-٥وريقة

***(١ ، ٨ ، ٩)

جدول ٢. نتائج نقاوة عينات DNA لاصناف الروز باستخدام جهاز المطياف الضوئي.

عينات DNA الاصناف	A260	A280	260/280
ورد الشاي .Tea R	0.1494	0.0741	2.0162
ورد المسك .Musk R	0.3198	0.1710	١.٨٧٠٢

2.0417	0.0960	0.1940	الورد الدائمي الهجين Hybrid perpetuls R.
١.٩٧٧٥	0.1244	0.2460	Climber R. الورد المتسلق
٢.٠٠٥	0.1209	0.2424	Miniature R. الورد القزمي
١.٨٩٨٨	0.1770	0.3361	French R. الورد الفرنسي

جدول٣. البادئات العشرة وتسلسلها النيوكليوتيدي وعدد الحزم المتضاعفة والمتباينة DNA اصناف الورد.

البادئات	التسلسل النيوكليوتيدي ٥ الى ٣	عدد الحزم المتضاعفة	عدد الحزم المتباينة
D12	CACCGTATCC	11	5
D13	GGGGTGACGA	12	6
D15	CATCCGTGCT	11	8
D16	AGGGCGTAAG	10	6
D19	CTGGGGACTT	13	7
C5	GATGACCGCC	12	7
C6	GAACGGACTC	11	6
C13	AAGCCTCGTC	14	8
C15	GACGGATCAG	15	8
C16	CACACTCCAG	13	7

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج الترحيل الكهربائي أختلافا واضحا في عدد حزم الـDNA المتضاعفة، وتباينا واضحا في اوزانها الجزيئية وذلك تبعا للبادىء المستخدم (شكل١) وبلغ العدد الكلي للحزم المتباينة ٦٨ حزمة لكافة البادئات المستخدمة (جدول٢).

اعتمدت طريقة تحليل نتائج دراسة العلاقة الوراثية على وجود أو غياب الحزم الناتجة من تضاعف قطع معينة من جينوم النباتات المستخدمة وعلى الأوزان الجزيئية لتلك الحزم التي تعتمد على العدد والمواقع المكملة لتسلسلات البادئات على شريط DNA القالب، اهملت الحزم الخفيفة جدا ، ويتفق هذا مع (٢١) و(١٢).

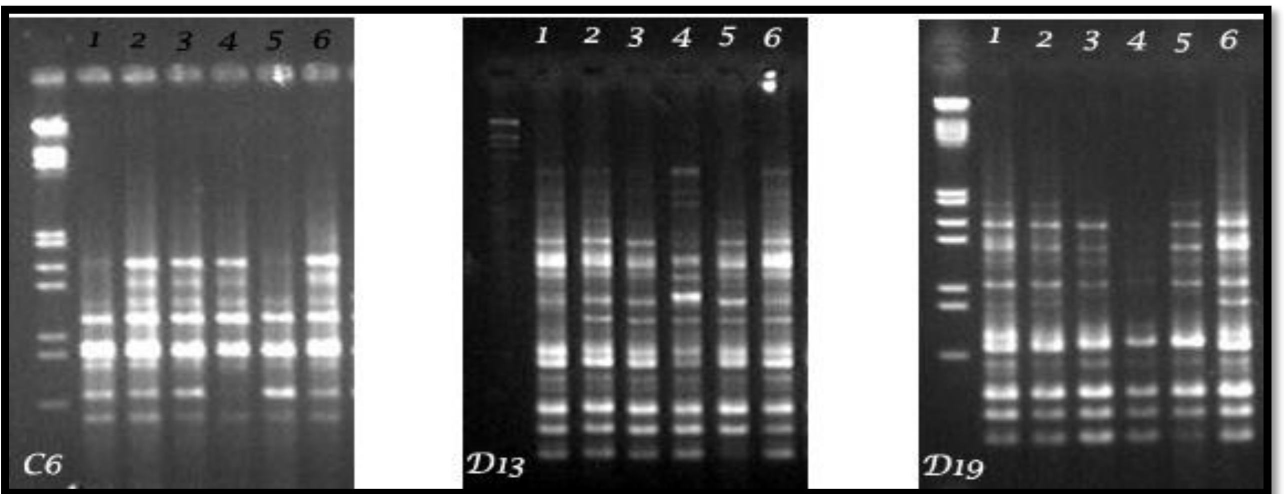
أما التباين المعتمد على الاختلافات في شدة (Intensity) تألق الحزم التي تكون ناتجة عادة من ظهور بعض الحزم المتضاعفة معاً في نفس الوزن الجزيئي فتظهر على شكل حزمة سميكة واحدة (هي بالحقيقة أكثر من حزمة (Comigrating bands) قد تكون ناتجة من حالة homozygotsity حيث يتم فيها تضاعف نفس الموقع على الاليل الآخر، وبما أنها بنفس الوزن الجزيئي لذلك تتجمع القطع المتضاعفة في تلك المواقع معا،وأحيانا زيادة تركيز DNA القالب يؤدي إلى تكرار عدد نسخ DNA الهدف مما يؤدي الى تضاعف نفس الموقع أكثر من مرة وبما ان التركيز الدقيق لـ DNA يكون من الصعوبة تحديده لتاثره بعدة عوامل لذلك لا يمكن استخدام الاختلاف في سمك الحزم الناتجة كمقياس للتباين الوراثي خاصة ان مؤشرات الـ RAPD هي من المؤشرات التي تتبع السيادة التامة وبذا فلا يمكن بها تقدير عدد الاليلات للموقع الواحد (٣) ويتفق هذا مع ما ذكره Vogt واخرون (٢٢) بعدم الاعتماد على شدة تالق الحزم كمقياس للتباين لصعوبة ضبط التركيز الدقيق DNA .

أعتمدت نتائج البادئات المستخدمة في تقدير نسبة البعد الوراثي Genetic distance بين كل صنفين من الاصناف المنتخبة والموصوفة من قبل Neiو Li (١٧) والتي تستند على وجود الحزم المشتركة بين زوج من تلك النباتات .

بعد إدخال البيانات الناتجة من استخدام البادئات في البرنامج المعد خصيصا لهذا الغرض على الحاسب الآلي تم إيجاد البعد الوراثي بين الاصناف المختارة وكما موضح في الجدول ٤.

تشير نتائج جدول٤ الى وجود اختلافات وراثية واضحة بين اصناف الورد الداخلة في التجربة حيث اعطى الورد الدائمي الهجين نسب مئوية للبعد الوراثي مرتفعة مع باقي الاصناف وكانت اعلاها ٤٠.٣% مع الورد المتسلق ثم تلتها ٣٩.٢% مع ورد المسك ، ٣٨.٧% مع الورد القزمي ، ٣٣.٧% مع ورد الشاي و ٣١.٧% مع الورد الفرنسي ، يعود سبب البعد الوراثي العالي بين الورد الدائمي الهجين وباقي الاصناف لكونه ينتمي الى الاصل R. damascene وهو من الاصول البرية الذي يعتبر بلاد الشام موطنه الاصلي ،وقد انعكس هذا البعد الوراثي العالي على الاختلافات المظهرية بين الورد الدائمي الهجين وباقي الاصناف وخاصة الورد المتسلق(جدول١).

اعطى ورد المسك بعد وراثي عالي ايضا وبلغ ٣٦.٢% مع الورد الفرنسي و ٣٥.٦% مع الورد القزمي و٢٧.٨% مع ورد الشاي ، نتج هذا البعد الوراثي عن كون ورد المسك يعتبر صنف بري ايضا موطنه الاصلي منطقة البحر الابيض المتوسط ويحمل صفات مظهرية مميزة تختلف عن باقي الاصناف كغزارة الاشواك والاوراق الجلدية ذات ٥-٨وريقات (جدول١) بينما انخفض البعد الوراثي بينه وبين الورد المتسلق الى ٢٤.٨% وهذا واضح من ان كلا الصنفين يمتلكان صفات مظهرية مشتركة كالسيقان الرفيعة والغزيرة الاشواك وغيرها (جدول١).



شكل١. صور الترحيل الكهربائي لستة اصناف من الورد بتقانة RAPD مع البادئات C6 و D13 وD19 والمرحلة على هلام الاكاروز بتركيز ١.٢%.

جدول٤. البعد الوراثي (%) بين اصناف الورد بأستخدام البيانات الناتجة من استخدام عشرة بادئات في مؤشرات RAPD.

الاصناف	ورد الشاي	ورد المسك	الورد الدائمي الهجين	الورد المتسلق	الورد القزمي	الورد الفرنسي
ورد الشاي	-	٢٧.٨	٣٣.٧	١٨.٩	٢٥.٣	٢٤.٥
ورد المسك		-	٣٩.٢	٢٤.٨	٣٥.٦	٣٦.٢

الورد الدائمي الهجين			-	٤٠.٣	٣٨.٧	٣١.٧
الورد المتسلق				-	٢٤.٩	٢٢.٤
الورد القزمي					-	٢٨.٥
الورد الفرنسي						-

اختلف الورد القزمي وراثيا بنسب مئوية متوسطة تقريبا مع الاصناف(الفرنسي ٢٨.٥% ، الشاي ٢٥.٣% و المتسلق ٢٤.٩%) وقد بين الجدول ١ الاختلافات المظهريه للقزمي مع باقي الاصناف في طبيعة الازهار وموعد الازهار وطبيعة النمو.

اما اقل نسبة مئوية للبعد الوراثي اعطاها الورد المتسلق مع الاصناف الفرنسي ٢٢.٤% وورد الشاي ١٨.٩% ، ربما يعود التشابه الوراثي العالي بين الورد المتسلق وورد الشاي الى ان اغلب اصناف الورد المتسلق نشأت عن طفرات وراثية من اصناف ورد الشاي او تهجين اصل الورد المتسلق R. multiflora مع ورد الشاي (٨).

تبين النتائج السابقة (جدول ٤) وجود اختلافات وراثية بين اصناف الورد الداخلة في الدراسة والتي كشفت عنها البصمة الوراثية باستخدام تقانة RAPD والتي تعتبر الهوية المستخدمة للتشخيص بين الاصناف ، وذلك من خلال معرفة البادئات العشرة القادرة على اظهار التباينات الوراثية بينها دون الحاجة الى اختبار العديد من البادئات . كما نلاحظ ان اعلى نسبة للبعد الوراثي كانت بين الاصناف البرية والاصناف الحديثة وهذا يعود الى المواقع الجغرافية المختلفة التي تتواجد بها هذه الاصناف . اما اقل نسبة للبعد الوراثي فكانت بين الاصناف الحديثة والناتجة عن التربية والتحسين (تهجين او تطفير) بين الاصول التي تعود اليها.

المصادر

١. أمين ، سامي كريم محمد و محسن خلف محمود.١٩٨٩.الزينة وهندسة الحدائق. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – جامعة بغداد – كلية الزراعة – جمهورية العراق . ع ص ٤٢٤.

٢. الجبوري ، كاظم ديلي ، جَنان قاسم و سامي كريم محمد امين .٢٠٠٩. التغايرات الوراثية للشبوي الناتجة عن الصعق الكهربائي بأستخدام تقانة RAPD. مجلة العلوم الزراعية العراقية. ٤٠(٥) : ١٢٢-١٣٤.

٣. الحسني ، خلود ابراهيم حسن .٢٠٠٢. استخدام المؤشرات الجزيئية المعتمدة على التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا في دراسة التنوع الوراثي للبطاطا *Solanum tuberosum L.* . اطروحة دكتوراه. قسم الهندسة الوراثية. كلية العلوم . جامعة بغداد. ع ص ١٩٦.

٤. الخولاني ، محمد العزي.٢٠٠٨. دراسة التباينات الوراثية لاصناف الشعير في الجمهورية اليمنية بأستخدام المؤشرات الجزيئية للـDNA . اطروحة دكتوراه . قسم المحاصيل الحقلية . كلية الزراعة . جامعة تشرين. الجمهورية العربية السورية. ع ص ١٣٢.

٥. الساهوكي ، مدحت مجيد .2006. تربية النبات بمساعدة المعلمات الجزيئية. مجلة العلوم الزراعية العراقية . ٣٧(٤): ٦٧-٧٢.

٦. حسين ، جَنان قاسم ، كاظم ديلي و سامي كريم محمد امين .٢٠٠٨. تأثير الصعق الكهربائي في DNA نبات حلق السبع. مجلة العلوم الزراعية العراقية . ٣٩(٥) : ٣٨-٥١.

٧. حسين، جَنان قاسم .٢٠٠٧. تأثير الصعق الكهربائي في تغايرات النمو الخضري والزهري وDNA بعض نباتات الزينة. اطروحة دكتوراة . قسم البستنة . كلية الزراعة . جامعة بغداد . العراق.ع ص ١٤١.

٨. خضر ، محمود.٢٠٠١.نباتات الزينة. وزارة التعليم العالي – جامعة حلب – كلية الزراعة – الجمهورية العربية السورية.ع ص ٣٣٦.

٩. شريتح ، محمد علي و مها عبد اللطيف.٢٠٠٤. نباتات الزينة وهندسة الحدائق.وزارة التعليم العالي – جامعة تشرين – كلية الزراعة – الجمهورية العربية السورية.ع ص ٣٦٢.

10. Ali, T.A., J.M. Jubrail, and A.M. Jassim. 2006. The use of RAPDs technique for the detection of genetic stability of the regenerated plantles (Barhi cv.) in Iraq. 3rd Inter, Date Palm, Conf, Feb, 19-21. Abu-Dhabi. UAE, p.15-37.

11. Al-Khalifah, N.S. and E. Askari. 2006. Early detection of genetic variation in date palm propagated from tissue culture and offshoots by DNA fingerprinting. In: 3rd Inter, Date Palm, Conf, Feb, 19-21. Abu-Dhabi. UAE, p.149-160.

12. Barone, A., A. Sebastiano and D. Carputo. 1999. Chromosome pairing in *Solanum commersonii, S. tuberosum* sexual hybrids detected by commersonii–specific RAPDs and cytological analysis. Genome 42: 218 –224.

13. Debener, T. and L. Mattiesch .2006. Effective pairwise combination of long primers for RAPD analyses in roses. Plant Breeding , 171: 147-151.

14. Frederrick, C. , A. Wagner and N. Morvillo.2002.Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis of the Musk roses (*Rosa moschata*) . Proc. Fla. State Hort. Soc. 115 : 117-119.

15. Haley, S.D. , L.K. Afanador , P.N. Miklas , J.R. Starely , and J.D. Kelly .1994. Hetergeneous inbred populations are useful as sources of near-isogenic lines for RAPD marker localization. Theor Appl Genet 88: 337-342.

16. Nebauer, S. G. , L. del Castillo–Agudo and J. Segura .1999. RAPD variation within and among natural populations of outcrossing willow –leaved foxglove (*Digitalis obscura* L.). Theoretical and Applied Genetics, 98 : 985 – 994.

17. Nei, M. and W.H. Li .1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Nat. Acad. Sci. USA.74:5269–5273.

18. Sahgi-maroof, M.A. , K.M. Soliman, R.A. Jorgens and R. W. Allard .1984. Ribosomal DNA spacer lenth polymorphisms in barley. Proc. Natl. Acad. Sci.USA. 81: 8014 – 8018.

19. Sambrook, J. , E.F. Fristsch and T. Maniatis .1989. Molecular Cloning, a laboratory manual, 2nd edn. Cold Spring Harbor laboratory. Cold Spring Harbor . New york.

20. Sandalli, C. , S. Beris , S. Canakci , Z. Demirbag and A. Osman .2005. RAPD analysis of three cultivars and awild formIn *Prunus laurocerasus* . Biologia, Bratislava, 60(1):83-87.

21. Swoboda, I. and P. L. Bhalla .1997. RAPD analysis of genetic variation in the Australian sun flower Scaevola. Genome, 40: 600 – 606.

22. Vogt, T. , M. Francoise , K. Frank , J. Welsh and M. Clelland .1997. Fingerprinting of DNA and RNA using arbitrarily primed PCR. IN: G. Anolles and P. M. Gresshof (eds.). DNA Markers, Protocols, Application and Overview. New York. p.55-74.

23. Weigand, F. , M. Baum, and S. Udupa .1993. DNA molecular marker techniques. Technical manual. No. 20 International Research for Agricultural reaearch in the Dry Areas, Aleppo, Syria.